

WO 2006/007884 A1



GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(57) Zusammenfassung: Kühleinrichtung (1) zur Kühlung eines Kühlguts, insbesondere für die Untersuchung, Manipulation und Bearbeitung von Kryoproben, mit einem Kühlraum (3) zur Aufnahme des Kühlguts, einer den Kühlraum (3) begrenzenden Innenwandung, einer Außenwandung, einem Zwischenraum zwischen der Außenwandung und der Innenwandung sowie einer Kühlmittelzuleitung (11) zur Einleitung eines Kühlmittels. Es wird vorgeschlagen, dass die Kühlmittelzuleitung (11) in den Zwischenraum zwischen der Innenwandung und der Außenwandung mündet und das Kühlmittel in den Zwischenraum einleitet, wobei die Innenwandung für das Kühlmittel durchlässig ist.

BESCHREIBUNG

5 Kühleinrichtung für biologische Proben

Die Erfindung betrifft eine Kühleinrichtung für biologische Proben, insbesondere für die Untersuchung, Manipulation und Bearbeitung von Kryoproben, gemäß dem Oberbegriff des An-
10 spruchs 1.

Es ist im Bereich der Biologie, der Pharmakologie, der Medizin und der Biotechnologie bekannt, Proben von biologischem Material unter Aufrechterhaltung der Vitalität des Probenma-
15 terials bei Temperaturen flüssigen Stickstoffs einzufrieren. Derartige Proben werden auch als Kryoproben bezeichnet, wobei die vitalitätserhaltende Lagerung solcher Kryoproben in sogenannten Kryotanks erfolgt, in denen sich flüssiger Stickstoff befindet. Zur Manipulation, Bearbeitung oder Untersuchung der
20 Kryoproben werden diese aus dem Kryotank entnommen und in eine Kühleinrichtung eingeführt, die beispielsweise aus einer Wanne bestehen kann, an deren Boden sich flüssiger Stickstoff befindet, der auch als Stickstoffsee bezeichnet wird und langsam verdampft, so dass die in der Wanne befindliche Kry-
25 oprobe weiterhin ausreichend gekühlt wird. Zur Vermeidung eines Ausgasens des flüssigen Stickstoffs in die Umgebungsluft kann hierbei eine durchsichtige Schutzglocke auf die Wanne aufgesetzt werden, wobei sich in der Wandung der Schutzglocke Handschuhmanschetten befinden können, über die eine Bedie-
30 nungsperson die in der Wanne befindliche Kryoprobe manipulieren kann.

Nachteilig an der vorstehend beschriebenen bekannten Kühleinrichtung zur Manipulation, Bearbeitung oder Untersuchung von

Kryoproben ist die unbefriedigende Temperaturkonstanz und -verteilung innerhalb der Wanne.

Ein weiterer Nachteil der bekannten Kühleinrichtung ist die
5 Tatsache, dass die Schutzglocke aufgrund des aus dem Stickstoffsee ausgasenden Stickstoffs beschlagen kann, was die Sichtkontrolle wesentlich erschwert.

Darüber hinaus kann man die Temperatur innerhalb der Wanne
10 bei der bekannten Kühleinrichtung nicht oder nur schwer durch eine Veränderung der in die Wanne eingebrachten Menge flüssigen Stickstoffs einstellen.

Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, die eingangs beschriebene Kühleinrichtung entsprechend zu verbessern.
15

Eine weiteres Ziel kann darin bestehen, die Temperaturkonstanz in der Kühleinrichtung zu verbessern, die Einstellung
20 der Temperatur zu ermöglichen, die Temperaturverteilung innerhalb der Kühleinrichtung zu optimieren, ein Beschlagen der Schutzglocke zu vermeiden und die Feuchtigkeit in dem Kühlraum zu minimieren.

25 Die vorstehend erwähnte Aufgabe wird durch eine Kühleinrichtung gemäß Anspruch 1 gelöst.

Die Erfindung beruht auf der technischen Erkenntnis, dass die unbefriedigende Temperaturkonstanz und -verteilung innerhalb
30 der Kühlwanne bei der bekannten Kühleinrichtung dadurch verursacht wird, dass sich der aus dem Stickstoffsee ausgasende Stickstoff innerhalb der Kühleinrichtung undefiniert verbreitet, so dass sich die gewünschte Arbeitstemperatur nur schwer erreichen und kaum regeln lässt. Das unkontrollierte Ausgasen

von Stickstoff aus dem Stickstoffsee führt darüber hinaus zu dem Beschlagen der aufgesetzten Schutzglocke.

Die Erfindung umfasst deshalb die allgemeine technische Lehre, einen Stickstoffsee in der Kühleinrichtung zu vermeiden
5 und stattdessen gasförmigen Stickstoff kontrolliert in den Kühlraum einzuleiten.

Die erfindungsgemäße Kühleinrichtung weist deshalb zur Aufnahme von Kühlgut einen Kühlraum auf, der von einer Innenwandung und einer Außenwandung begrenzt wird, wobei sich zwischen der Innenwandung und der Außenwandung ein Zwischenraum befindet, in den eine Kühlmittelzuleitung mündet. Das Kühlmittel (z.B. flüssiger Stickstoff) wird hierbei also nicht
10 direkt in den Kühlraum eingeleitet, sondern in den Zwischenraum zwischen der Innenwandung und der Außenwandung des Kühlraums, wobei die Innenwandung für das Kühlmittel durchlässig ist, so dass das Kühlmittel aus dem Zwischenraum zwischen der Außenwandung und der Innenwandung durch die Innenwandung hin-
15 durch in den Kühlraum eintritt.

Vorzugsweise ist in dem Zwischenraum zwischen der Innenwandung und der Außenwandung des Kühlraums ein Puffermaterial angeordnet, welches das in den Zwischenraum eingeleitete
20 Kühlmittel vorübergehend aufnimmt und kontinuierlich durch die Innenwandung hindurch in den Kühlraum abgibt.

Das Puffermaterial ist deshalb vorzugsweise porös, um beispielsweise flüssigen Stickstoff zwischenspeichern zu können.

30

Die Außenwandung des Kühlraums ist im Gegensatz zu der Innenwandung des Kühlraums vorzugsweise für das Kühlmittel undurchlässig, um ein Austreten des Kühlmittels nach außen in die Umgebung zu verhindern. Darüber hinaus ist die Außenwan-

derung vorzugsweise thermisch isolierend, um eine Abkühlung der Umgebung bzw. eine Erwärmung der Kühleinrichtung zu vermeiden.

5 Die Innenwandung des Kühlraums besteht dagegen vorzugsweise aus einem thermisch leitfähigen Material, wie beispielsweise Metall, um den Wärmeübergang von dem innenliegenden Kühlraum auf das in dem Zwischenraum befindliche Kühlmittel zu verbessern. Darüber hinaus ist es vorteilhaft, wenn das Material
10 der Innenwandung nicht nur eine gute thermische Leitfähigkeit aufweist, sondern auch eine hohe spezifische Wärmekapazität hat, so dass die Innenwandung mit ihrer Wärmekapazität als thermischer Puffer unerwünschten Temperaturschwankungen entgegenwirkt.

15

In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung ist die Innenwandung im Wesentlichen gitterförmig, so dass das in dem Zwischenraum befindliche Kühlmittel weitgehend ungehindert in den Kühlraum ausgasen kann.

20

Weiterhin ist der Kühlraum in einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung wannenförmig und weist an seiner Oberseite einen umlaufenden Rand auf, wobei die Kühlmittelzuleitung vorzugsweise einen Kühlmittelverteiler aufweist, der
25 sich entlang dem umlaufenden Rand des Kühlraums erstreckt und das Kühlmittel über seine Länge verteilt in den Zwischenraum zwischen der Innenwandung und der Außenwandung des Kühlraums einleitet. Das Kühlmittel wird hierbei also gleichmäßig in den Zwischenraum zwischen der Innenwandung und der Außenwan-
30 dung des Kühlraums eingeleitet, was vorteilhaft zu einer gleichmäßigen Temperaturverteilung in dem Kühlraum führt, da der Kühlraum von allen Seiten gleichmäßig gekühlt wird.

Darüber hinaus besteht im Rahmen der Erfindung die Möglichkeit, dass in dem Kühlraum ein Heizelement angeordnet ist, um den Kühlraum zu erwärmen oder das in dem Kühlraum befindliche Kühlgut zu aufzutauen. Vorzugsweise ist dieses Heizelement unter bzw. in einer Heizplatte angeordnet, wobei die Heizplatte vorzugsweise mehrere Durchlässe aufweist, die eine Gaszirkulation ermöglichen.

Wie bei der eingangs beschriebenen bekannten Kühleinrichtung besteht auch bei der erfindungsgemäßen Kühleinrichtung die Möglichkeit, auf den Kühlraum eine abnehmbare Schutzglocke aufzusetzen, um das Eindringen von Feuchtigkeit in den Kühlraum zu vermeiden. Vorzugsweise ist diese Schutzglocke mindestens teilweise durchsichtig, um eine Sichtkontrolle des in dem Kühlraum befindlichen Kühlguts zu ermöglichen.

In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung weist die Schutzglocke eine Probenschleuse auf, durch die das Kühlgut in den Kühlraum eingeführt bzw. aus dem Kühlraum entnommen werden kann, wobei die Probenschleuse einen Wärmeaustausch mit der Umgebung weitgehend verhindert.

Ferner kann an der Unterseite der Schutzglocke und/oder an der Oberseite des Kühlraums ein Kaltgasauslass angeordnet sein, über den Kühlmittel oder Kaltgas aus dem Kühlraum entweichen kann. Dieser Kaltgasauslass verursacht einen großen Temperaturgradienten in der Höhe des Kaltgasauslasses, wobei die Temperatur oberhalb des Kaltgasauslasses wesentlich höher ist als unterhalb des Kaltgasauslasses. Auf diese Weise wird vorteilhaft ein Beschlagen der Schutzglocke verhindert.

Weiterhin erfolgt im Rahmen der Erfindung vorzugsweise eine Regelung der Temperatur in dem Kühlraum. Hierzu weist die erfindungsgemäße Kühleinrichtung vorzugsweise einen in dem

Kühlraum angeordneten Temperatursensor auf, um die Temperatur in dem Kühlraum zu messen bzw. zu regulieren. Als Stellglied zur Temperatureinstellung ist dann vorzugsweise ein steuerbares Kühlmittelventil vorgesehen, das die Menge des zugeführten Kühlmittels bzw. den Kühlmittelstrom einstellt. Die eigentliche Temperaturregelung erfolgt dann durch einen Temperaturregler, der eingangsseitig mit dem Temperatursensor verbunden ist und ausgangsseitig das Kühlmittelventil entsprechend einem vorgegebenen Temperatur-Sollwert ansteuert.

10

Die Ansteuerung des Kühlmittelventils durch den Temperaturregler kann hierbei über einen Taktgeber erfolgen, der das Kühlmittelventil abwechselnd öffnet und schließt, wobei die Öffnungs- und Schließzeiten des Kühlmittelventils von dem Taktgeber vorgegeben und von dem Temperaturregler eingestellt werden. Die Kühlmittelzufuhr erfolgt hierbei also diskontinuierlich, indem das Kühlmittelventil abwechselnd öffnet und schließt.

20 Vorzugsweise ist der Temperatursensor zur Erfassung der Temperatur in dem Kühlraum hierbei auf der Bearbeitungsposition des Kühlraums angeordnet, um die optimale Bearbeitungstemperatur in dem Kühlraum zu messen bzw. zu regulieren.

25 Der Temperaturregler regelt die Temperatur in dem Kühlraum deshalb vorzugsweise so, dass sich am Boden des Kühlraums kein Kühlmittelsee bildet.

30 Ferner ist zu erwähnen, dass es sich bei dem Kühlmittel vorzugsweise um flüssigen Stickstoff handelt, wobei die Erfindung jedoch nicht auf Stickstoff als Kühlmittel beschränkt ist, sondern auch mit anderen flüssigen oder gasförmigen Kühlmitteln realisierbar ist, die in den Zwischenraum zwi-

schen der Innenwandung und der Außenwandung des Kühlraums eingeleitet werden können.

Die erfindungsgemäße Kühleinrichtung kann für verschiedene
5 Temperaturbereiche eingesetzt werden, wie beispielsweise bei
Temperaturen von ungefähr -150°C , -130°C , -80°C , -40°C , $+4^{\circ}\text{C}$
oder $+37^{\circ}\text{C}$, wobei die vorstehend erwähnten Temperaturbereiche
beispielsweise eine Bandbreite von $\pm 10^{\circ}\text{C}$, $\pm 5^{\circ}\text{C}$ oder $\pm 2^{\circ}\text{C}$ um-
fassen können. Eine Temperatur von 37°C ist vorteilhaft, weil
10 die Wachstumstemperatur von biologischen Zellen dann optimal
ist. Eine Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ bietet dagegen den Vorteil,
dass die physiologischen Prozesse in den Zellen verlangsamt
sind. Bei einer Manipulation von Zellen bei einer Temperatur
von weniger als 4°C ist die Zellschädigung geringer (z.B. mit
15 Tropsia und DMSO).

Schließlich umfasst die Erfindung nicht nur die vorstehend
beschriebene Kühleinrichtung als Gerät, sondern auch die Ver-
wendung einer solchen Kühleinrichtung zur Untersuchung, Bear-
20 beitung und/oder Manipulation einer Kryoprobe.

Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den
Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusam-
men mit der Beschreibung des bevorzugten Ausführungsbeispiels
25 der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:

Figur 1 eine Perspektivansicht eines bevorzugten Ausführ-
ungsbeispiels der erfindungsgemäßen Kühleinrich-
tung mit einer aufgesetzten Schutzglocke,
30

Figur 2 eine Perspektivansicht der Schutzglocke aus Figur 1
im abgenommenen Zustand,

Figur 3 eine Querschnittsansicht der Wandstruktur des Kühlraums bei der Kühleinrichtung aus Figur 1,

5 Figur 4 eine vereinfachte perspektivische Darstellung der Kühlmittelzufuhr bei der Kühleinrichtung aus Figur 1 sowie

Figur 5 ein regelungstechnisches Ersatzschaltbild der Kühleinrichtung aus Figur 1.

10

Das in den Zeichnungen dargestellte Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Kühleinrichtung 1 dient zur Temperierung eines Kühlraums zur Aufnahme von Kryoproben bei einer Untersuchung, Manipulation und/oder Bearbeitung.

15

Hierzu weist die Kühleinrichtung 1 eine Kryo-Wanne 2 mit einem wannenförmigen, oben offenen Kühlraum 3 auf, wobei auf die Kryo-Wanne 2 eine abnehmbare Schutzglocke 4 aufgesetzt ist, die das Eindringen von Feuchtigkeit aus der Umgebung in
20 den Kühlraum verhindert und detailliert in Figur 2 dargestellt ist.

Die Schutzglocke 4 weist zur Einführung der Kryoproben in den Kühlraum 3 und zur Entnahme der Kryoproben aus dem Kühlraum 3
25 eine Probenschleuse 5 auf, die seitlich an der Schutzglocke 4 angebracht ist und beim Einführen der Kryoproben bzw. bei der Entnahme der Kryoproben einen Wärmeaustausch mit der Umgebung weitgehend verhindert und die Feuchtigkeit in dem Kühlraum 3 minimiert.

30

Weiterhin weist die Schutzglocke 4 an ihrer Oberseite eine Lampe 6 auf, um den Kühlraum 3 zu beleuchten und die Manipulation der in dem Kühlraum 3 befindlichen Kryoproben dadurch zu erleichtern.

Die Schutzglocke 4 selbst besteht hierbei aus einem durchsichtigen Material, was eine einfache Sichtkontrolle durch eine Bedienungsperson erlaubt.

5

An der abgeschrägten Vorderseite der Schutzglocke 4 befinden sich zwei herkömmliche Handschuhmanschetten 7, 8, durch die eine Bedienungsperson die in dem Kühlraum 3 befindlichen Kryoproben ohne Gasaustausch manipulieren kann.

10

Ferner befinden sich an der Rückseite der Schutzglocke 4 unten zwei Öffnungen 9, über die Kaltgas aus der Schutzglocke 4 austreten kann. Die beiden Öffnungen 9 haben zur Folge, dass sich in der Höhe der beiden Öffnungen 9 ein großer Temperaturgradient einstellt, da Kaltgas aus den beiden Öffnungen 9 nach außen entweicht. Die Atmosphäre in der Schutzglocke 4 oberhalb der Öffnungen 9 ist deshalb wesentlich wärmer als unterhalb der Öffnungen 9, was einem Beschlagen der Innenwände der Schutzglocke 4 entgegenwirkt.

20

An der Oberseite der Kryo-Wanne 2 befindet sich an der an der Vorderseite weiterhin ein Bedien- und Anzeigefeld 10, an dem die Temperatur in dem Kühlraum 3 angezeigt und eingestellt werden kann.

25

Die Kühlung des Kühlraums 3 erfolgt hierbei durch flüssigen Stickstoff, der aus einem Stickstofftank (z.B. einem Apollo-Behälter) über eine Stickstoffleitung 11 zugeführt wird, wobei die Stickstoffleitung 11 nicht direkt in den Kühlraum 3 mündet, um die Bildung eines Stickstoffsees am Boden des Kühlraums 3 zu vermeiden. Stattdessen mündet die Stickstoffleitung 11 über ein elektrisch steuerbares Kühlmittelventil 12 in eine Kühlmittelzuleitung 13, wobei sich die Kühlmittelzuleitung 13 entlang dem umlaufenden Rand des wannenförmigen

30

Kühlraums 3 erstreckt und den flüssigen Stickstoff über die Länge verteilt abgibt.

Der Kühlraum 3 ist hierbei von einer aus Metall bestehenden,
5 gitterförmigen Innenwandung 14 begrenzt, die von einer Außenwandung 15 umschlossen wird, wobei die Innenwandung 14 und die Außenwandung 15 einen Zwischenraum einschließen, in dem ein Puffermaterial 16 angeordnet ist. Die Kühlmittelzuleitung 13 ist in seitlicher Richtung zwischen der Innenwandung 14
10 und der Außenwandung 15 oberhalb des Puffermaterials 16 angeordnet und weist nach unten gerichtete Austrittsöffnungen auf, durch die flüssiger Stickstoff aus dem Inneren der Kühlmittelzuleitung 13 in das Puffermaterial 16 abgegeben wird. Das Puffermaterial 16 absorbiert den flüssigen Stickstoff und
15 gibt diesen kontinuierlich durch die gitterförmige Innenwandung 14 hindurch in den Kühlraum 3 ab.

Das Kühlmittelventil 12 arbeitet hierbei diskontinuierlich, indem das Kühlmittelventil 12 entweder schließt oder öffnet.
20

Die Ansteuerung des Kühlmittelventils 12 erfolgt hierbei durch einen Taktgeber 17, wobei die Öffnungszeit T_{AUF} und die Schließzeit T_{ZU} für das Kühlmittelventil 12 von einem Regler 18 vorgegeben werden, um das Kühlmittel zu dosieren.

25 Die Regelung erfolgt hierbei in Abhängigkeit von der Temperatur in dem Kühlraum 3, die von einem Temperatursensor 19 gemessen wird, wobei der Temperatursensor 19 an der Bearbeitungsposition des Kühlraums 3 angeordnet ist.

30 Der Temperatursensor 19 misst deshalb eine Temperatur T_{IST} und liefert diese an einen Subtrahierer 20 weiter, der als weitere Eingangsgröße einen Sollwert T_{SOLL} für die Temperatur in

dem Kühlraum 3 erhält und eine Soll-Ist-Abweichung ΔT berechnet.

Der Regler 18 stellt die Öffnungszeit T_{AUF} und die Schließzeit
5 T_{ZU} für das Kühlmittelventil 12 dann so ein, dass die gewünschte Temperatur (z.B. -130°C) in dem Kühlraum 3 herrscht, ohne dass sich am Boden des Kühlraums 3 ein Stickstoffsee bildet.

10 Weiterhin ist auf dem Boden des Kühlraums 3 eine Heizplatte 21 angeordnet, die eine Beheizung der Kryoprobe und des Kühlraums 3 ermöglicht.

In der Heizplatte 21 sind hierbei zahlreiche senkrecht durch-
15 gehende Durchlässe 22 angeordnet, die eine Gaszirkulation ermöglichen.

Die Erfindung ist nicht auf das vorstehend beschriebene Ausführungsbeispiel beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von
20 Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

Bezugszeichenliste:

- 1 Kühleinrichtung
- 2 Kryo-Wanne
- 3 Kühlraum
- 4 Schutzglocke
- 5 Probenschleuse
- 6 Lampe
- 7, 8 Handschuhmanschetten
- 9 Öffnungen
- 10 Bedien- und Anzeigefeld
- 11 Stickstoffleitung
- 12 Kühlmittelventil
- 13 Kühlmittelzuleitung
- 14 Innenwandung
- 15 Außenwandung
- 16 Puffermaterial
- 17 Taktgeber
- 18 Regler
- 19 Temperatursensor
- 20 Subtrahierer
- 21 Heizplatte
- 22 Durchlässe

* * * * *

ANSPRÜCHE

- 5 1. Kühleinrichtung (1) zur Kühlung eines Kühlguts, insbesondere für die Untersuchung, Manipulation und/oder Bearbeitung von Kryoproben, mit
- einem Kühlraum (3) zur Aufnahme des Kühlguts,
 - einer den Kühlraum (3) begrenzenden Innenwandung (14),
 - 10 - einer Außenwandung (15),
 - einem Zwischenraum zwischen der Außenwandung (15) und der Innenwandung (14) sowie
 - einer Kühlmittelzuleitung (11, 13) zur Einleitung eines Kühlmittels,
- 15 **dadurch gekennzeichnet, dass**
- die Kühlmittelzuleitung (11, 13) in den Zwischenraum zwischen der Innenwandung (14) und der Außenwandung (15) mündet und das Kühlmittel in den Zwischenraum einleitet, wobei die Innenwandung (14) für das Kühlmittel durchlässig ist.
- 20
2. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Zwischenraum ein Puffermaterial (16) angeordnet ist, welches das in den Zwischenraum eingeleitete Kühlmittel vorübergehend aufnimmt und kontinuierlich durch
- 25 die Innenwandung (14) hindurch in den Kühlraum (3) abgibt.
3. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Puffermaterial (16) porös ist.
- 30 4. Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Innenwandung (14) im Wesentlichen gitterförmig ist.

5. Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Innenwandung (14) aus einem thermisch leitfähigen Material besteht.
- 5 6. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Innenwandung (14) im Wesentlichen aus Metall besteht.
7. Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Kühlraum (3) wannenförmig ist und an seiner Oberseite einen umlaufenden Rand aufweist.
- 10 8. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kühlmittelzuleitung (11, 13) einen Kühlmittelverteiler (13) aufweist, der sich entlang dem umlaufenden Rand des Kühlraums (3) erstreckt und das Kühlmittel über seine Länge verteilt in den Zwischenraum einleitet.
- 15 9. Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Kühlraum (3) ein Heizelement (21) angeordnet ist.
- 20 10. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Heizelement unter einer Heizplatte (21) angeordnet ist, wobei die Heizplatte (21) mehrere Durchlässe (22) aufweist, die eine Gaszirkulation ermöglichen.
- 25 11. Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** auf den Kühlraum (3) eine abnehmbare Schutzglocke (4) aufgesetzt ist.
- 30

12. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Schutzglocke (4) mindestens teilweise durchsichtig ist.
- 5 13. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 11 oder 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Schutzglocke (4) eine Probenschleuse (5) aufweist.
- 10 14. Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** an der Unterseite der Schutzglocke (4) und/oder an der Oberseite des Kühlraums (3) ein Kaltgasauslass (9) angeordnet ist, über den Kühlmittel und/oder Kaltgas aus dem Kühlraum (3) entweichen kann.
- 15 15. Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch**
- einen in dem Kühlraum (3) angeordneten Temperatursensor (19) zur Messung der Temperatur in dem Kühlraum (3),
 - einem steuerbaren Kühlmittelventil (12) zur Einstellung

20 der Menge des zugeführten Kühlmittels,

 - einen Temperaturregler (18) zur Regelung der Temperatur in dem Kühlraum (3), wobei der Temperaturregler (18) ein-
 - gangsseitig mit dem Temperatursensor (19) und ausgangs-
 - seitig mit dem Kühlmittelventil (12) verbunden ist.
- 25
16. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Temperaturregler (18) über einen Taktgeber (17) mit dem Kühlmittelventil (12) verbunden ist, wobei der Taktgeber (17) das Kühlmittelventil (12) abwechselnd öffnet
- 30 und schließt.
17. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 15 oder 16, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Temperatursensor (19) an einer Bearbeitungsposition in dem Kühlraum (3) angeordnet ist.

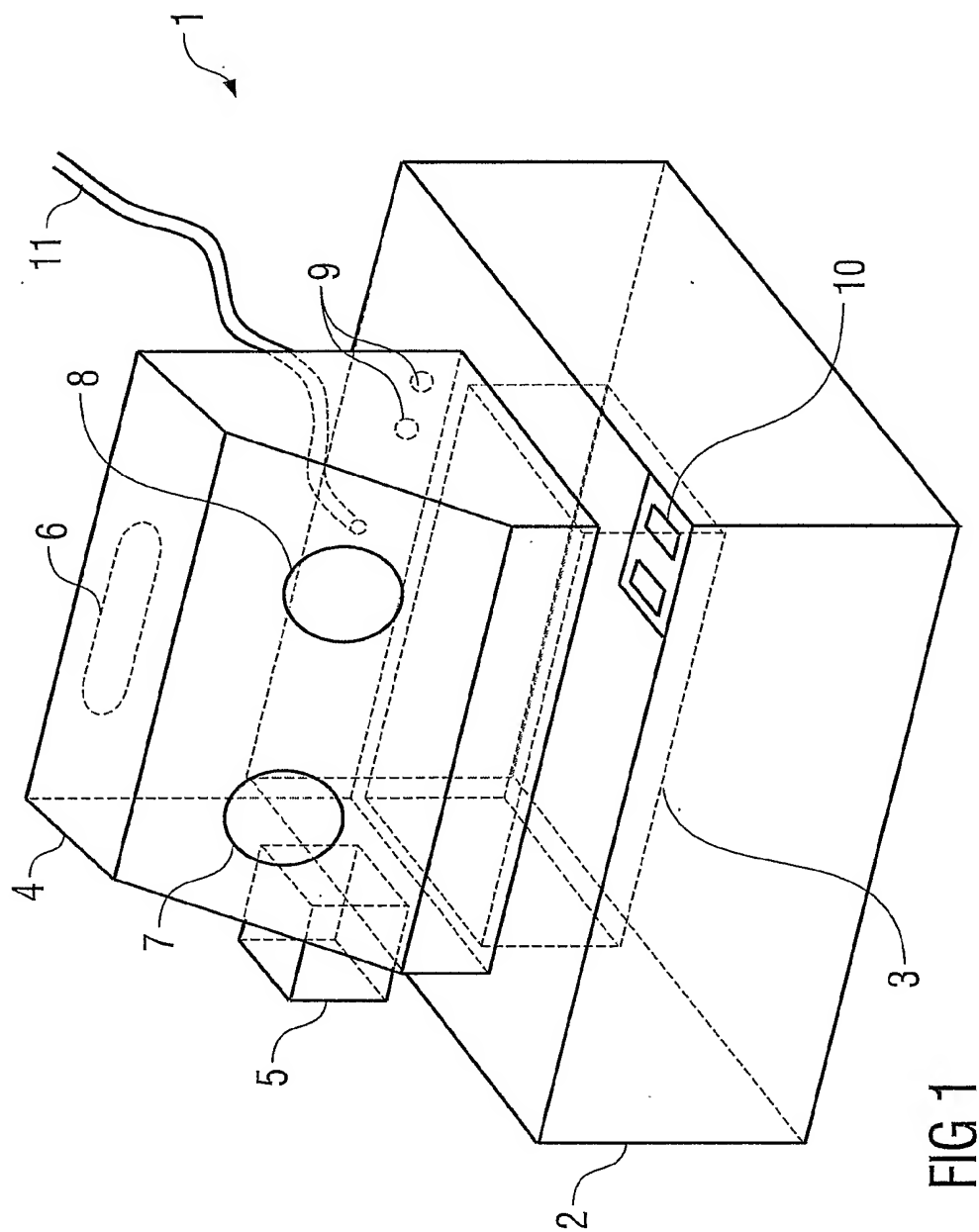
18. Kühleinrichtung (1) nach Anspruch 15 bis 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Temperaturregler (18) und/oder der Taktgeber (17) die Kühlmittelzufuhr so einstellt, dass sich
5 am Boden des Kühlraums (3) kein Kühlmittelsee bildet.

19. Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Kühlmittel flüssiger Stickstoff ist.

10

20. Verwendung einer Kühleinrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Untersuchung, Bearbeitung und/oder Manipulation einer Kryoprobe.

* * * * *



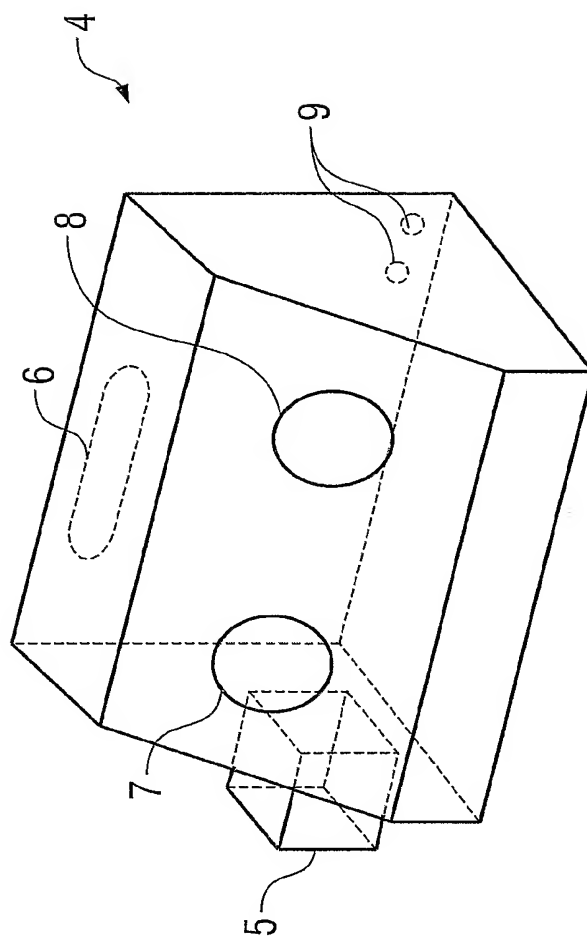


FIG 2

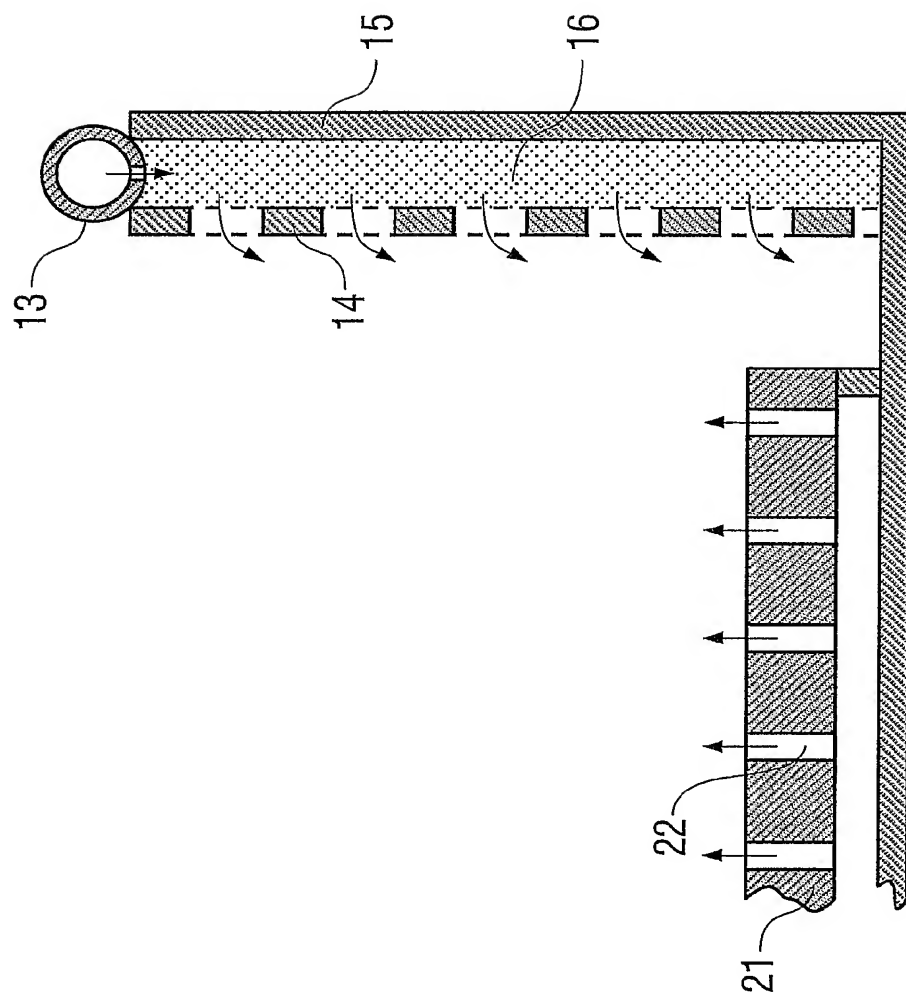


FIG 3

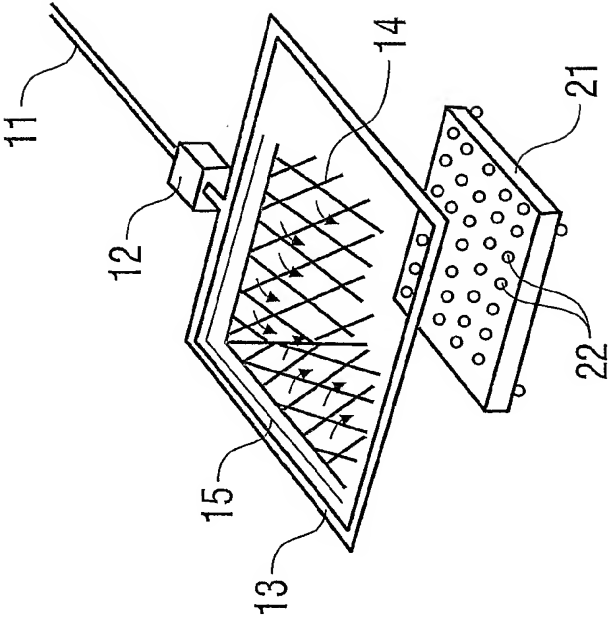


FIG 4

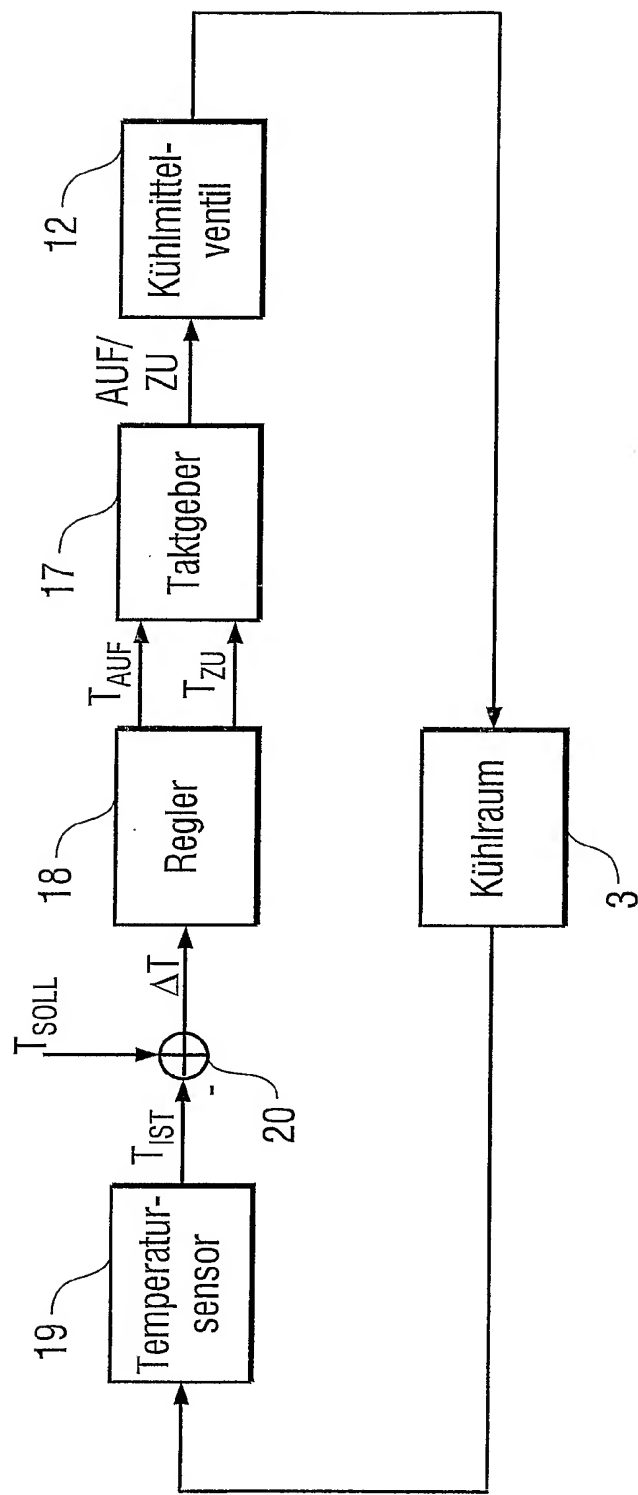


FIG 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/003162

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01L1/00 B01L7/02 B25J21/02 F25D23/06 F25D3/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01L B25J F25D F25B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2003/066639 A1 (WANG JENG-YAU ET AL) 10 April 2003 (2003-04-10) paragraphs '0005!, '0006!, '0022!; claim 4; figures 1-3	1, 4-7, 9-20
X	EP 0 301 168 A (CRYOGENICS INTERNATIONAL, INC) 1 February 1989 (1989-02-01) column 6, line 15 - column 8, line 5; figures 1-4	1, 2, 4-12, 14-20
A	US 5 601 143 A (BINDER ET AL) 11 February 1997 (1997-02-11) column 4, lines 1-56	1-20
A	US 4 455 842 A (GRANLUND ET AL) 26 June 1984 (1984-06-26) column 4, lines 12-20	3
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *8* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 June 2005

Date of mailing of the international search report

08/07/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Tiede, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/003162

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 680 945 A (HOFFMEISTER ET AL) 21 July 1987 (1987-07-21) column 1, line 1 - column 3, line 5 -----	1-20
A	US 2003/140648 A1 (HATTORI WATARU) 31 July 2003 (2003-07-31) the whole document -----	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/003162

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003066639	A1	10-04-2003	TW 512925 Y	01-12-2002
EP 0301168	A	01-02-1989	US 4739622 A	26-04-1988
			AU 602066 B2	27-09-1990
			AU 1339188 A	27-01-1989
			CA 1284723 C	11-06-1991
			CN 1032073 A ,B	29-03-1989
			DE 3874041 D1	01-10-1992
			DE 3874041 T2	17-06-1993
			EP 0301168 A1	01-02-1989
			JP 1031925 A	02-02-1989
US 5601143	A	11-02-1997	DE 4406145 A1	31-08-1995
			FR 2716635 A1	01-09-1995
			GB 2286879 A ,B	30-08-1995
			JP 3013283 B2	28-02-2000
			JP 7256123 A	09-10-1995
US 4455842	A	26-06-1984	US 4377077 A	22-03-1983
US 4680945	A	21-07-1987	DE 3517518 A1	20-11-1986
			AT 71456 T	15-01-1992
			DE 3683315 D1	20-02-1992
			EP 0202599 A2	26-11-1986
US 2003140648	A1	31-07-2003	US 6505471 B1	14-01-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/003162

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01L1/00 B01L7/02 B25J21/02 F25D23/06 F25D3/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 B01L B25J F25D F25B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 2003/066639 A1 (WANG JENG-YAU ET AL) 10. April 2003 (2003-04-10) Absätze '0005!', '0006!', '0022!; Anspruch 4; Abbildungen 1-3	1,4-7, 9-20
X	EP 0 301 168 A (CRYOGENICS INTERNATIONAL, INC) 1. Februar 1989 (1989-02-01) Spalte 6, Zeile 15 - Spalte 8, Zeile 5; Abbildungen 1-4	1,2, 4-12, 14-20
A	US 5 601 143 A (BINDER ET AL) 11. Februar 1997 (1997-02-11) Spalte 4, Zeilen 1-56	1-20
A	US 4 455 842 A (GRANLUND ET AL) 26. Juni 1984 (1984-06-26) Spalte 4, Zeilen 12-20	3
	-/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

^a Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. Juni 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

08/07/2005

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Tiede, R

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/003162

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 680 945 A (HOFFMEISTER ET AL) 21. Juli 1987 (1987-07-21) Spalte 1, Zeile 1 - Spalte 3, Zeile 5 -----	1-20
A	US 2003/140648 A1 (HATTORI WATARU) 31. Juli 2003 (2003-07-31) das ganze Dokument -----	1-20

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/003162

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 2003066639	A1	10-04-2003	TW	512925 Y	01-12-2002
EP 0301168	A	01-02-1989	US	4739622 A	26-04-1988
			AU	602066 B2	27-09-1990
			AU	1339188 A	27-01-1989
			CA	1284723 C	11-06-1991
			CN	1032073 A ,B	29-03-1989
			DE	3874041 D1	01-10-1992
			DE	3874041 T2	17-06-1993
			EP	0301168 A1	01-02-1989
			JP	1031925 A	02-02-1989
US 5601143	A	11-02-1997	DE	4406145 A1	31-08-1995
			FR	2716635 A1	01-09-1995
			GB	2286879 A ,B	30-08-1995
			JP	3013283 B2	28-02-2000
			JP	7256123 A	09-10-1995
US 4455842	A	26-06-1984	US	4377077 A	22-03-1983
US 4680945	A	21-07-1987	DE	3517518 A1	20-11-1986
			AT	71456 T	15-01-1992
			DE	3683315 D1	20-02-1992
			EP	0202599 A2	26-11-1986
US 2003140648	A1	31-07-2003	US	6505471 B1	14-01-2003